

Potensi Pendekatan in Silico Sebagai Penghambat Aktivitas Protein Protease Utama SARS-CoV-2 dari Tiga Senyawa Tanaman Obat Jahe Merah

Cut Annisa Thahara, Rizarullah*, Ratih Ayu Atika, Abdul Wahab

Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Abulyatama, Aceh, Indonesia

*Email: rizarullah_fk@abulyatama.ac.id

Article History:

Received date: February 21, 2022

Received in revised from: May 24, 2022

Accepted date: June 7, 2022

Available online: September 18, 2022

Citation:

Thahara, C.A., Rizarullah, Atika, R.A., & Wahab, A. 2022. Potensi pendekatan *in silico* sebagai penghambat aktivitas protein protease utama SARS-CoV-2 dari tiga senyawa tanaman obat jahe merah. *JUPI (Jurnal IPA dan Pembelajaran IPA)*, 6(3):207-218.

Abstract. Corona Virus Disease (covid-19) is a pneumonia outbreak that has been worldwide to date. This outbreak was caused by a Coronavirus originating from Hubei province that first occurred in Wuhan in December 2019. Covid-19 is caused by SARS-CoV-2. SARS-CoV-2 which causes corona has important proteins that are used to infect and replicate, one of which is the main protease protein (Mpro). Red ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) is one of the spices that has properties to cure various diseases such as flu, cough and diarrhea. Ginger contains compounds that are antioxidants. The purpose of this study was to examine the potential biological activity of red ginger compounds, namely Gingerol 10, Shogaol 6, and Shogaol 8 as inhibitors of the main protease (MPro) protein activity of SARS-CoV-2. This research was conducted using the In Silico method and AutoDock Vina software was used for the tethering process. The results of gridbox optimization by redocking control ligands obtained RMSD results of 1,100 Å. The results of the tethering showed Gibbs free energy (ΔG) Test Ligand 1 (-5.5 kcal/mol), Test Ligand 2 (-6.0 kcal/mol), and Test Ligand 3 (-5.6 kcal/mol) which showed red ginger compounds have potential as inhibitor of the main protease (MPro) protein activity of SARS-CoV-2.

Keywords: Main Protease (M^{Pro}), Gingerol 10, Shogaol 6, Shogaol 8

Pendahuluan

Kasus gangguan pernapasan akut yang lebih dikenal dengan virus Corona atau *Corona Virus Disease* 2019 (Covid-2019) masih menjadi berita utama di sebagian besar media masa dunia tahun 2020 ini. Covid-19 ini merupakan penyakit yang sangat berbahaya terbukti dengan pernyataan *World Health Organization* (WHO) yang mengatakan bahwa penyakit ini merupakan pandemi global. Data infeksi di seluruh dunia dari *worldometer* tercatat mencapai lebih dari 192.281.943 kasus positif. Jumlah pasien yang meninggal dunia juga terus bertambah menjadi 4.134.016 orang meninggal dunia akibat covid-19, di Indonesia tanggal 21 Juli 2021 dari Satgas Penanganan covid-19 tercatat sudah ada 2.950.058 kasus positif terhitung sejak kasus pertama diumumkan pada 2 maret 2020. Jumlah pasien yang meninggal dunia juga bertambah menjadi 76.200 orang meninggal dunia akibat covid-19 di Indonesia, dengan adanya pernyataan ini maka kondisi saat ini tidak boleh disepelekan karena dalam sepanjang sejarah hanya terdapat beberapa penyakit yang digolongkan sebagai pandemi. Pandemi sendiri merupakan sebuah

epidemic yang menyebar ke beberapa negara dan menjangkiti banyak orang. Istilah pandemi ditunjukkan pada tingkat penyebarannya saja bukan digunakan untuk menunjukkan tingkat keparahan suatu penyakit (Muhyiddin & Nugroho, 2021).

SARS-CoV-2 yang menyebabkan corona memiliki protein penting yang digunakan untuk menginfeksi dan bereplikasi, salah satunya yaitu protein main protease (M^{pro}) (Xiao dkk., 2018). Protease utama (M^{pro} juga dikenal sebagai $3CL^{pro}$) (Elbager dkk., 2020), adalah salah satu protein nonstruktural Coronavirus (Nsp5) yang ditetapkan sebagai salah satu target potensial untuk pengembangan obat penyebaran covid-19, maka dapat dijadikan sebagai target yang menarik untuk desain obat antivirus (Fakih & Dewi, 2020) (Xiao dkk., 2018). Walaupun sudah banyak penelitian yang melaporkan protein target dari SARS-CoV-2 yang dapat dijadikan sebagai desain obat, namun sampai saat ini belum banyak obat – obat yang berasal dari tanaman dapat efektif untuk melawan SARS-CoV 2. Hal tersebut memacu banyak peneliti untuk melakukan eksplorasi senyawa kandidat anti-SARS-CoV-2.

Jahe merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) merupakan salah satu rempah-rempah yang telah dikenal luas oleh masyarakat. Sebagai penghasil flavor dalam berbagai produk pangan, jahe merah juga dikenal mempunyai khasiat menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti menurunkan nyeri sendi pada lansia dengan osteoarthritis (Aryanti dkk., 2019). Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa aktif non volatile fenol seperti gingerol, shogaol dan zingeron yang terdapat pada jahe merah terbukti memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mengandung cincin benzene dan gugus hidroksil sehingga memiliki potensi yang baik dalam bidang farmasi dan biomedis (Lallo dkk., 2018). Pada penelitian ini diteliti 3 senyawa dari jahe merah yaitu 10-gingerol, 6-shogaol, 8-shogaol untuk dinilai apakah memiliki aktivitas biologis yaitu sebagai potensi penghambat aktivitas protein main protease (M^{pro}) SARS-CoV-2.

Berdasarkan hasil penelusuran literatur yang telah dilakukan, belum ada penelitian mengenai penambatan molekul (molecular docking) senyawa jahe merah terhadap protein yang berperan penting dalam proses infeksi dan replikasi SARS-CoV-2 dalam sel inang seperti main protease (M^{pro}) SARS-CoV-2 (Al-Sehemi dkk., 2020). Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengungkap potensi senyawa 10-gingerol, 6-shogaol, 8-shogaol yang terkandung di dalam jahe merah sebagai kandidat penghambat aktivitas protein main protease (M^{pro}) SARS-CoV-2 melalui pengikatan nya pada protein target tersebut.

Metode

Desain penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental laboratoris secara in silico dari senyawa tanaman obat jahe merah (*Zingiber officinale var. Rubrum*) terhadap aktivitas protein main protease (M^{pro}) SARS-CoV-2 covid-19 menggunakan aplikasi perangkat lunak molecular docking Autodock Vina. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain, struktur tiga dimensi M-pro SARS-CoV-2 (PDB ID: 6W63) sebagai reseptor yang diperoleh dari basis data RCSB Protein Data Bank (PDB) (Mesecar dkk., 2021). Struktur tiga dimensi dari ligan uji diperoleh dari basis data PubChem. Ligan uji yang digunakan adalah 3 senyawa yang terkandung di dalam *Zingiber officinale var. Rubrum*, yaitu : 10-gingerol (Pubchem ID: 168115), 6-shogaol (Pubchem ID: 5281794), 8-shogaol (Pubchem ID: 6442560). Peralatan perangkat keras yang digunakan dalam penelitian ini adalah Laptop Asus Vivobook max X441UA dengan spesifikasi Prosesor 208 | JIPI (Jurnal IPA dan Pembelajaran IPA), 6(3), p.207-218, (2022)

Intel Core i3 -6006U (2.00 GHz, 3M Cache), RAM 4GB. Perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian adalah Biovia Discovery Studio 2020, AutoDock Tools 1.6.5, AutoDock Vina, Proton II online tool dan pkCSM online tool. Secara garis besar, langkah- langkah untuk menuju simulasi docking yaitu:

(1) Mengunduh berkas reseptor dan berkas ligand

Reseptor yang akan digunakan adalah main protein covid-19, struktur tiga dimensi M-pro SARS-CoV-2 dengan format.PDB diunduh dari Protein Data Bank yang dapat diakses pada link [https://www.rcsb.org/structure\(PDB ID: 6W63\)](https://www.rcsb.org/structure(PDB ID: 6W63)). Ligand yang akan digunakan adalah 3 senyawa yang terkandung di dalam jahe merah, yang di unduh dari PubChem dapat diakses pada link <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>, Ligand-ligand tersebut kemudian di unduh dengan display 3D Conformer di save dengan format SDF dan file digabungkan di dalam satu folder dengan reseptor.

(2) Preparasi ligand dan Preparasi reseptor

Berkas ligand yang telah di unduh di konversi dari format sdf ke format pdb menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio 2020, kemudian di preparasi menggunakan perangkat lunak Autodock Tools. Penyesuaian torsi dilakukan dengan detecting root dan diatur sesuai yang diinginkan. kemudian file ligand dan reseptor disimpan ke dalam format file pdbqt dan mengatur grid box di bagian ligan yang berikatan dengan reseptor.

(3) Validasi Metode Penambatan Molekul

Validasi metode penambatan molekul dilakukan untuk menghitung nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dengan metode redocking, menambatkan kembali ligand bawaan sebagai ligand kontrol yaitu X77 pada reseptor dengan kode PDB 6w63.

(4) Penambatan molekul dengan Autodock Vina

Dengan menggunakan perangkat lunak AutoDock Vina dan dijalankan menggunakan command prompt dilakukan kalkulasi *docking* pada ligan untuk mendapatkan energi bebas Gibbs (ΔG) dan nilai RMSD terbaik.

(5) Visualisasi hasil

Visualisasi hasil docking dengan memilih konfirmasi ligan yang memiliki hasil energy bebas Gibbs (ΔG) yang paling tinggi dan nilai RMSD, lalu di analisis ikatan hidrogen dan residu kontak antara ligan dan reseptor dapat diamati menggunakan perangkat lunak *Biovia Discovery Studio*.

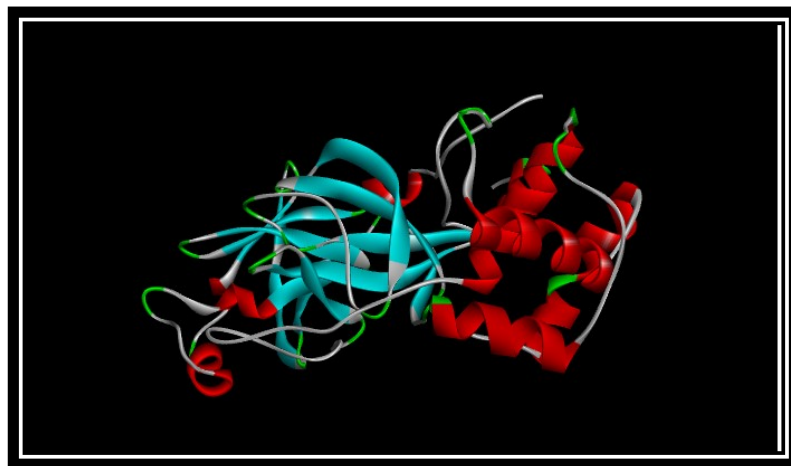
Hasil dan Pembahasan

Struktur dan Stabilitas Reseptor

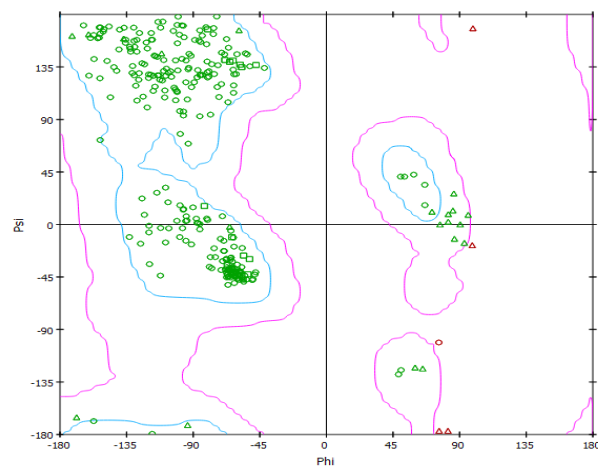
Struktur main protein covid – 19 atau nama lainnya struktur tiga dimensi M^{pro} SARS-CoV-2 atau disebut juga 3CL^{pro}, dikenal juga sebagai NSP5 merupakan salah satu enzim SARS-CoV-2 yang memiliki fungsi utama dalam melepaskan polipeptida fungsional dari poliprotein melalui proses proteolitik yaitu proses translasi dan perbanyakan materi genetik dalam replikasi virus SARS-CoV-2 yang baru (Asnawi, 2020; Al-Sehemi dkk., 2020). Pentingnya peran M^{pro} ini menjadikannya salah satu target penting dalam mendesain antivirus covid – 19. Enzim ini memiliki 15 residu asam amino sebagai sisi aktif yaitu HIS41, MET49, PHE140, LEU141, ASN142, GLY143, HIS163, HIS164, MET165, GLU166, PRO168,

HIS72, GLN189, THR190, ALA191 serta 2 residu asam amino yaitu CYS145 dan HIS41 yang memiliki peran dalam aktivitas katalitik (Fakih & Dewi, 2020).

Reseptor 6W63 dapat dijadikan target untuk menghasilkan energi bebas Gibbs yang nantinya energi ini dapat digunakan untuk menghitung kerja reversible maksimum. Penurunan energi tersebut merupakan kerja maksimum dari hasil senyawa – senyawa yang direaksikan, sehingga semakin negatif energi Gibbs yang dihasilkan maka ikatan senyawa tersebut menjadi semakin stabil dan kuat (Suhadi dkk., 2019). Enzim M^{pro} SARS-CoV-2 dengan kode PDB 6W63 memiliki struktur 3D dihasilkan melalui kristalografi dengan metode fraksi dan memiliki resolusi sebesar 2,10 Å (Al-Sehemi dkk., 2020; Wlodawer dkk., 2008).



Gambar 1. Struktur 3D Enzim Mpro SARS-CoV-2 (6w63)



Gambar 2. Diagram Ramachandran PDB : 6W63

Enzim ini memiliki diagram plot Ramachandran, dimana diagram plot ini dapat menilai stabilitas suatu reseptor (Gambar.2). Berdasarkan hasil analisis, diagram plot Ramachandran yang menunjukkan sebagian besar residu terletak di wilayah yang diizinkan, dimana titik hijau menunjukkan residu asam amino dan garis biru menunjukkan wilayah diizinkan yang menandakan protein tersebut memiliki resolusi tinggi. Analisis plot Ramachandran ini dapat memberikan pandangan tentang konformasi protein. 210 | JIPI (Jurnal IPA dan Pembelajaran IPA), 6(3), p.207-218, (2022)

Berdasarkan teori analisis tersebut protein yang memiliki 98% residu di wilayah yang diizinkan dianggap sebagai struktur protein yang berkualitas baik. 2% menempati daerah yang diinginkan (*Allowed*), dan 0% di daerah yang dihindari (*outlier*) dengan demikian, struktur 3 dimensi reseptor 6W63 dianggap stabil. Analisis ini diprediksi oleh Biovia Discovery studio (Elbager dkk., 2020).

Struktur dan Stabilitas Ligand

Ligan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ligan yang berasal dari tanaman obat jahe merah (*Z. officinale*) yang terdiri atas tiga ligan yaitu gingerol 10, shogaol 6 dan shogaol 8. Struktur kimia gingerol dan shogaol memiliki 1 buah cincin benzena dengan lebih dari 6 buah rantai karbon sehingga tidak terlalu polar. Remdesivir merupakan ligan pembanding pada penelitian ini, sedangkan yang menjadi ligan kontrol adalah ligan bawaan dari reseptor pdb 6W63 yaitu ligan N-(4-Tert-butylphenyl)-N-[(1R)-2-(cyclohexylamino)-2-oxo-1-(pyridin-3-yl)ethyl]-1H-imidazole-4-carboxamid atau sering disebut ligan X77.

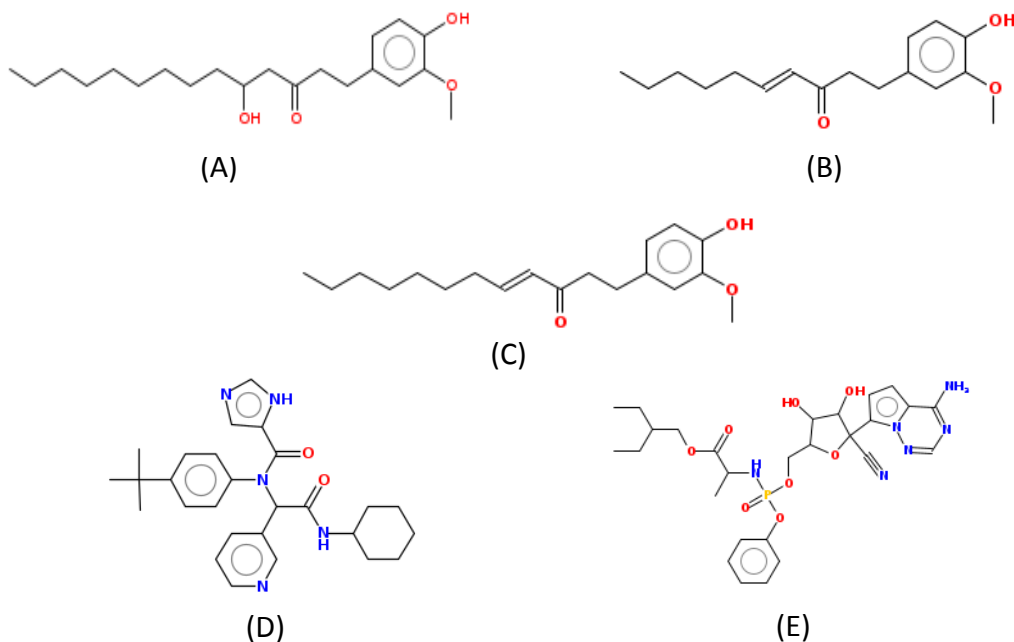
Tabel 1. Hasil Analisis Stabilitas Ligan dengan Aturan Lipinski

Ligan	Massa atom relatif (Da)	Donor ikatan	Akseptor ikatan	Log P	Refraktivitas molar
Kontrol	458.000	0	7	-0,132	103.176
Pembanding	371.000	6	11	-1,739	79.573
Ligan 1	350.000	2	4	4,794	101.220
Ligan 2	276.000	1	3	4,038	101.220
Ligan 3	304.000	1	3	4,819	90.502

Ligan yang berpotensi dijadikan obat harus memenuhi aturan lipinski yang merupakan lima aturan untuk mengevaluasi suatu obat dalam memprediksi efektivitas suatu obat dan menguji kelayakannya sebagai obat oral. Aturan Lipinski memperkirakan suatu kelarutan dan permeabilitas senyawa yang dikembangkan melalui pendekatan eksperimental dan komputasi. Kelima aturan tersebut yaitu massa atom relatif kurang dari ≤ 500 Da, donor ikatan hidrogen ≤ 5 , akseptor ikatan hidrogen ≤ 10 , $\log P \leq 5$, dan nilai refraktivitas molar berkisar 40-130 (Lipinski, 2004; Syahputra dkk., 2014).

Berdasarkan hasil pengujian stabilitas ligan didapatkan data donor ikatan dan akseptor ikatan pada ligan pembanding yaitu redemsivir nilainya tidak sesuai teori dari kriteria aturan lipinski. Hasil ini menandakan senyawa tersebut tidak dapat dijadikan obat oral karena telah melanggar dua aturan lipinski, hal itu terbukti benar redemsivir tidak memiliki sediaan dalam bentuk oral, namun sediaan dalam bentuk injeksi. Seluruh ligan uji pada penelitian ini sesuai kriteria lipinski dan berpotensi dapat dijadikan obat sediaan oral.

Pengembangan suatu kandidat obat dari senyawa tertentu perlu dilakukan uji toksisitas agar nantinya aman saat digunakan oleh manusia. Pengujian toksisitas secara in silico dapat lebih efektif dan efisien dalam penggunaan waktu, pendanaan serta mengurangi faktor coba-coba seperti penggunaan hewan sebagai bahan uji karena adanya masalah etika. Untuk menentukan toksisitas suatu kandidat obat dapat dilakukan dengan uji ProTox-II dan pkCSM online tool memberikan prediksi nilai toksisitas oral, prediksi hepatotoksitas, dan karsinogenitas (Ortiz dkk., 2019).



Gambar 3. A. Struktur ligand 1 (Gingerol 10), B. Struktur ligand 2 (Shogaol 6), C. Struktur ligand 3 (Shogaol 8), D. Struktur ligand kontrol (X77), E. Struktur ligand pembanding (Remdesivir).

Tabel 2. Hasil Analisis Toksisitas Ligan

Ligan	LD ₅₀ (mg/kg)	Hepatotoxicity	Carcinogenicity	Kelas Toksisitas
Kontrol	650	Active	Inactive	4
Pembanding	1000	Inactive	Inactive	4
Ligan uji 1	250	Inactive	Inactive	3
Ligan uji 2	687	Inactive	Inactive	4
Ligan uji 3	687	Inactive	Inactive	4

Berdasarkan Tabel 2, ligan pembanding yaitu redemsivir memiliki nilai LD₅₀ yang paling besar yaitu 1000 mg/kg dan dapat diklasifikasikan pada kelas toksisitas 4, serta redemsivir tidak menimbulkan hepatotoksitas dan karsinogenitas. Pada ligan kontrol nilai LD₅₀ bernilai 650 mg/kg diklasifikasikan pada kelas toksisitas 4, tidak menimbulkan karsinogenitas namun dapat menimbulkan hepatotoksitas. Pada ligan uji 1 memiliki nilai LD₅₀ yang paling kecil yaitu 250 mg/kg diklasifikasikan pada kelas toksisitas 3 dan tidak menimbulkan hepatotoksitas dan karsinogenitas. Pada ligan uji 2 dan 3 memiliki nilai LD₅₀ yang sama yaitu 687 mg/kg dan diklasifikasikan pada kelas toksisitas 4 serta tidak menimbulkan hepatotoksitas dan karsinogenitas. Berdasarkan hasil diatas selain ligan uji 1 maka rentang nilai LD₅₀ antara 600-1000 mg/kg dan toksisitas kelas 4 menunjukkan toksisitas yang relatif rendah. Semakin tinggi nilai LD₅₀ maka semakin rendah toksisitasnya maka sebaliknya semakin rendah nilai LD₅₀ maka semakin tinggi toksisitasnya (Angelina dkk., 2008).

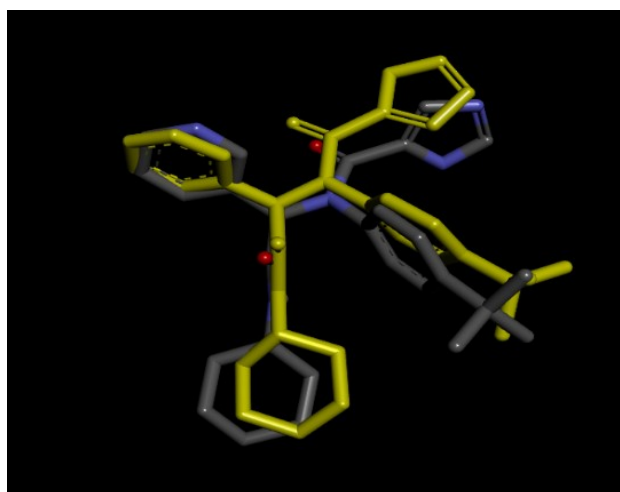
Merujuk pada postulat yang diungkapkan oleh seorang ahli fisika sekaligus filsuf, **Paracelsus** yang hidup antara tahun 1493-1541 M diawal ketika toksikologi baru 212 | JIPI (Jurnal IPA dan Pembelajaran IPA), 6(3), p.207-218, (2022)

berkembang, menjelaskan tentang **LD₅₀**. Postulat Paracelcus yang terkenal itu berbunyi: "Semua zat adalah racun. Dosis yang tepat membedakan racun dari penawar. Dosislah yang menentukan racun atau tidak." *oleh sebab itu uji toksisitas secara in silico harus dilanjutkan secara in vitro dan in vivo untuk menentukan dosis yang aman karena uji toksisitas secara in silico hanya menentukan kemungkinan bukan merupakan suatu fakta* (Budiawan, 2008).

Validasi Metode Penambatan Molekul

Validasi metode penambatan molekul dilakukan untuk menghitung nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dengan metode redocking, menambatkan kembali ligand bawaan sebagai ligand kontrol yaitu X77 pada reseptor dengan kode PDB 6w63. Redocking dilakukan dengan menggunakan grid box dengan ukuran dimensi x, y, z (40) dan pusat x (-19.208), pusat y (19.141), dan pusat z (-26.735). Hasil redocking diperoleh nilai RMSD dibawah 2 yaitu sebesar 1,1 Å dan energi affinitas yang dihasilkan sebesar -7,9 kcal/mol. Validasi metode ini dilakukan menggunakan perangkat lunak berupa program AutoDock Tools (versi 1.5.6) untuk menentukan gridbox serta untuk preparasi ligand dan AutoDockVina menggunakan algoritma Lamarckian Genetic Algorithm (LGA) untuk menilai energi hasil docking yang dipen garuhi oleh search run, yang merupakan pengulangan yang dilakukan dalam proses docking. Hasil penambatan memperlihatkan posisi ligand yang sudah di redocking dengan yang belum di docking saling tumpang tindih.

Metode docking dikatakan reliable / valid apabila nilai RMSD kurang dari 2 Å, yang berarti semakin kecil nilai RMSD semakin dekat posisi ligan bawaan hasil docking dengan ligan bawaan hasil kristalografi. Sistem docking yang digunakan dalam kondisi ligan yang fleksibel. Kondisi ligan fleksibel memungkinkan ligan untuk melakukan penyesuaian struktur demi mencapai konformasi yang stabil saat berikatan dengan sisi aktif reseptor (Rut dkk., 2020). Validasi metode penambatan molekul digunakan untuk memastikan bahwa metode yang digunakan akurat, serta ukuran grid box yang digunakan sudah sesuai dengan sisi aktif pada enzim untuk docking senyawa uji selanjut nya (Cubuk & Ozbil, 2021).



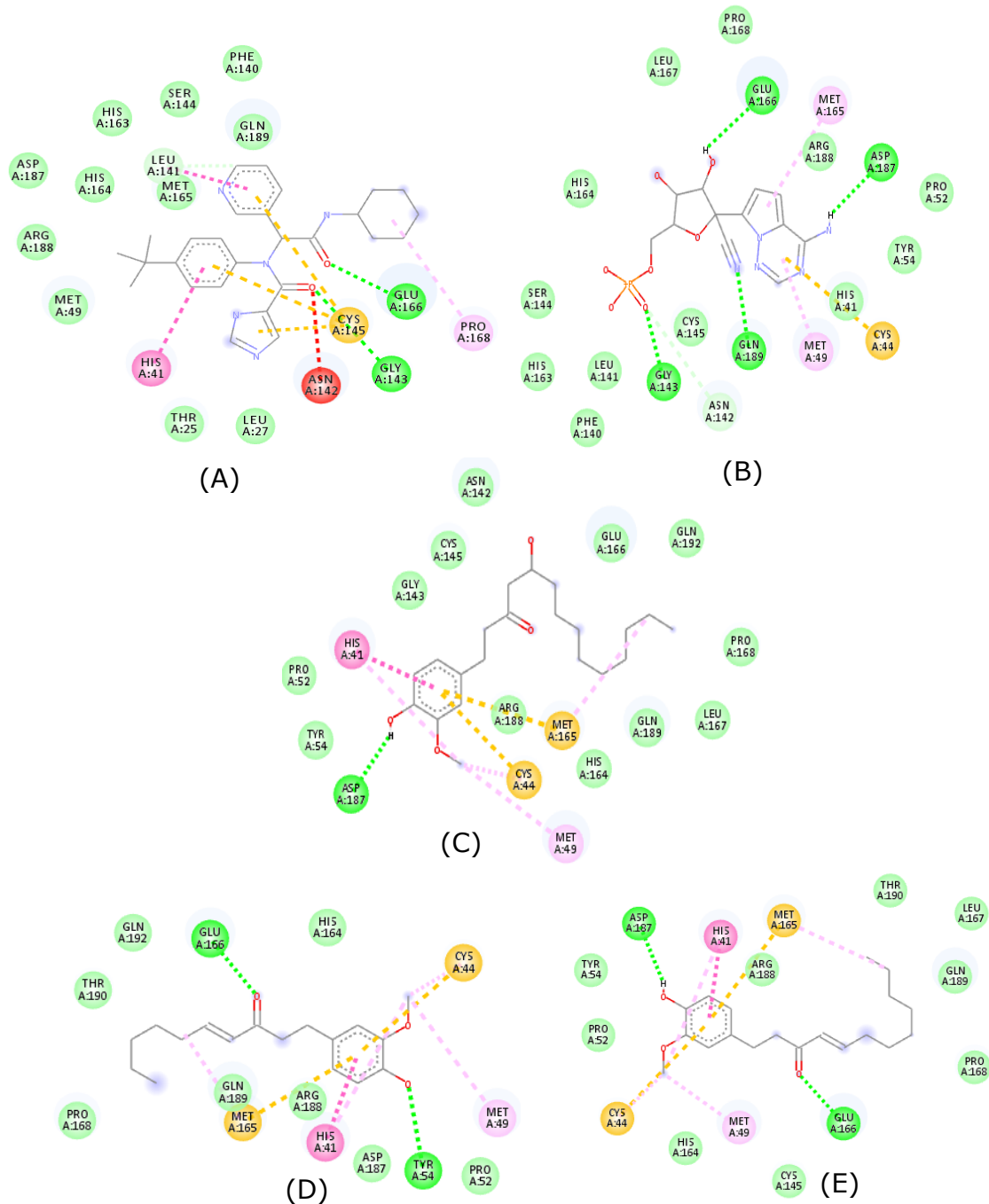
Gambar 4. Visualisai Superimpose Ligan Sebelum dan Sesudah Redocking (Ket: Ligan yang berwarna kuning adalah ligan sebelum redocking)

Analisis Hasil Docking

Analisis docking pada penelitian ini menggunakan ligan kontrol X77, ligan pembanding redemsivir, dan 3 ligan uji dari jahe merah, yaitu gingerol 10, shogaol 6, dan shogaol 8. Hasil analisis docking dipilih nilai energi gibbs dan RMSD yang terbaik dan dilakukan visualisasi dengan menggunakan perangkat lunak Discovery Studio untuk menganalisis interaksi antara reseptor dan ligan yang meliputi jenis ikatan, panjang ikatan hidrogen, atom pada ligan yang berikatan dengan reseptor dan residu asam amino pada reseptor enzim yang berinteraksi.

Tabel 3. Binding Site Similarity Ligan Uji dan Ligan Kontrol

Ligan	Energi Afinitas (Kkal/mol)	RMSD (Å)	Residu Asam Amino Ikatan Hidrogen	Jarak Ikatan Hidrogen (Å)	Residu Asam Amino Ikatan Pi dan Ikatan Hidrofobik
Kontrol (X77)	-7.9	1.100	GLU166 GLY143	2.04 2.95	Pro168, Cys145, Leu27, Thr25, His41, Met49, Arg188, Asp187, His164, His163, Met165, Leu141, Ser144, Gln189, Phe140
Pembanding (Redemsivir)	-6.8	1.371	GLU166 ASP187 GLN189 GLY143	2.55 2.20 2.44 2.62	Met165, Arg188, Pro52, Tyr54, His41, Cys44, Met49, Cys145, Asn142, Leu141, Phe140, His163, Ser144, His164, Leu167, Pro168
Ligan 1	-5.5	1.312	ASP187	2.02	Pro168, Leu167, Gln189, His164, Met165, Met49, Cys44, Arg188, Tyr54, Pro52, His41, Gly143, Cys145, Asn143, Glu166, Gln192
Ligan 2	-6.0	0.775	TYR54 GLU166	2.89 2.12	Cys44, Met49, Pro52, Asp187, His41, Arg188, Met165, Gln189, Pro168, Thr190, Gln192, His164
Ligan 3	-5.6	0.811	GLU166 ASP187	2.30 1.99	Thr190, Leu167, Gln189, Pro168, Cys145, Met49, His164, Cys44, Pro52, Tyr54, His41, Arg188, Met165



Gambar 5. A.Visualisasi ligand kontrol (X77), B.Visualisasi ligand pembanding (Remdesivir), C.Visualisasi ligand 1 (Gingerol 10), D.Visualisasi ligand 2 (Shogaol 6), E.Visualisasi ligand 3 (Shogaol 8)

Energi afinitas atau Energi bebas Gibbs (ΔG) dalam termodinamika dikenal juga sebagai entalpi bebas, yakni suatu potensial termodinamika yang dapat digunakan untuk menghitung kerja reversibel maksimum yang dapat dilakukan oleh sistem termodinamika

pada suhu dan tekanan konstan (isothermal, isobaric. (Du dkk., 2016) energi Gibbs akan semakin spontan bernilai semakin negatif dibawah 0, semakin spontan energy Gibss maka semakin kuat interaksi antara ligand dan protein target (Ortiz dkk., 2019) Pada penelitian ini didapatkan hasil nilai afinitas ligan 1, ligan 2 dan ligan 3 bernilai negatif seperti ligan kontrol dan ligan pembanding sehingga berpotensi menjadi inhibitor enzim M^{pro} SARS-CoV-2, namun ligan 2 memiliki nilai Gibs tertinggi dibandingkan ligan 1 dan 2.

Hasil analisis docking yang efektif juga dapat dievaluasi melalui nilai RMSD. Hasil yang didapatkan nilai RMSD yang dianggap efektif dalam melakukan penambatan adalah kurang dari 2.00 (Çubuk & Özbil, 2021). Nilai RMSD yang dibandingkan untuk melihat keefektifitasan sebuah ligan menghambat reseptor adalah RMSD l.b karena nilai RMSD lebih spesifik sebagai hasil RMSD penambatan. Hasil analisis docking pada reseptor 6W63 (Tabel 1) menunjukkan nilai RMSD pada ligan kontrol, ligan pembanding, ligan uji memiliki nilai RMSD l.b di bawah 2.00 Å, dengan demikian semua ligan dinyatakan efektif dalam menghambat enzim M^{pro} SARS-CoV-2 dengan PDB ID 6W63.

Enzim atau reseptor M^{pro} SARS-CoV-2 dengan kode PDB 6W63 memiliki 15 residu asam amino sebagai sisi aktif yaitu HIS41, MET49, PHE140, LEU141, ASN142, GLY143, HIS163, HIS164, MET165, GLU166, PRO168, HIS72, GLN189, THR190, ALA191. Residu asam amino merupakan sisi aktif reseptor yang berikatan dengan ligan. Sisi aktif tersebut berperan agar ligand menghambat kerja reseptor. Berdasarkan hasil docking ligan kontrol, ligan pembanding, ligan uji 1, ligan uji 2 dan ligan uji 3 residu asam aminonya terikat pada sisi aktif reseptor (Tabel 3).

Ikatan hidrogen yang dianggap stabil dan memiliki ikatan yang kuat harus memiliki panjang <2.7 Å. Jika, panjang ikatan melebihi 2.7 Å maka ikatan tersebut dianggap lemah dan mudah putus (Itoh dkk., 2019). Pada hasil penelitian panjang ikatan hidrogen yang terdapat pada ligan kontrol dan ligan uji 2 memiliki panjang ikatan yang melebihi 2.7 Å pada asam amino GLY143 dengan panjang ikatan hidrogen 2.95 untuk ligan kontrol dan pada asam amino TYR54 dengan panjang ikatan hidrogen 2.89 untuk ligan uji 2. Ligan pembanding, ligan uji 1, dan ligan uji 3 memenuhi syarat dengan adanya ikatan hidrogen kuat dengan nilai <2.7 Å. Berdasarkan data tersebut maka dapat disimpulkan bahwa ligan pembanding, ligan uji 1, dan ligan uji 3 memiliki ikatan hidrogen yang kuat. Ikatan hidrogen pada ligan kontrol dan ligan uji 2 merupakan ikatan hidrogen yang lemah, namun ikatan hidrogen yang lemah dan kuat dapat menjadi lebih stabil lagi karena pada setiap interaksi terdapat ikatan pi, ikatan kovalen, dan ikatan hidrofobik yang bertugas untuk menstabilkan ikatan hidrogen (Pace dkk., 2014).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil molekular docking dapat disimpulkan bahwa senyawa kandidat obat dari jahe merah yaitu gingerol 10, shogaol 6 dan shogaol 8 dapat berpotensi menjadi inhibitor M^{pro} SARS-CoV-2 berdasarkan nilai energi bebas Gibbs (ΔG) gingerol 10 (ligan uji 1) memiliki nilai -5.5 kkal/mol, shogaol 6 (ligan uji 2) memiliki nilai -6.0 kkal/mol dan shogaol 8 (ligan uji 3) memiliki nilai -5.6 kkal/mol. Shogaol 6 (ligan uji 2) lebih berpotensi sebagai inhibitor M^{pro} SARS-CoV-2 karena nilai energi bebas Gibbs (ΔG) lebih negatif dan spontan, sehingga shogaol 6 memiliki interaksi antara ligand dan protein target yang lebih kuat dibandingkan gingerol 10 dan shogaol 8.

Daftar Pustaka

- Al-Sehemi, A.G., Pannipara, M., Parulekar, R.S., Patil, O., Choudhari, P.B., Bhatia, M.S., Zubaidha, P.K., & Tamboli, Y. 2020. Potential of NO donor furoxan as SARS-CoV-2 main protease (M pro) inhibitors: in silico analysis. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(15):1–15.
- Angelina, M., Hartati, S., Dewijanti, I.D., Banjarnahor, S.D., & Meilawati, L. 2008. Penentuan LD 50 daun cinco (*Cyclea barbata Miers*) pada mencit. *Makara Journal of Science*, 12(1):23–26.
- Aryanti, P.I., Haryanto, J., & Ulfiana, E. 2019. Pengaruh masase jahe merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) terhadap nyeri pada lansia dengan osteoarthritis. *Jurnal Keperawatan*, 10(1):67–77.
- Budiawan, N. 2008. Peran toksikologi forensik dalam mengungkap kasus keracunan dan pencemaran lingkungan. *Indonesian Journal of Legal & Forensic Sciences*, 1(1):35–39.
- Cubuk, H. & Ozbil, M. 2021. Comparison of clinically approved molecules on SARS-CoV-2 drug target proteins: a molecular docking study. *Turkish Journal of Chemistry*, 45(1):35–41.
- Du, X., Li, Y., Xia, Y.L., Ai, S.M., Liang, J., Sang, P., Ji, X.L., & Liu, S.Q. 2016. Insights into protein–ligand interactions: mechanisms, models, and methods. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(2):144–178.
- Elbager, S., Hamza, A., Bkrye, A.M., Alrashied, A.M., Ali, E.N.M., Mohamed, H.A., Abubaker, H.A., Mohamed, I.A., Goda, M.A.H., Basher, M.Y., Gabir, N.F.A., & Khalil, S.I. 2020. Identification of potential drug targets and prediction of the potential impact of high risk non synonymous single nucleotide polymorphism in SARS-CoV-2 3C like proteinase (3CLpro): A Computational Approach. *ChemRxiv*, 1(1):1–23.
- Fakih, T.M. & Dewi, M.L. 2020. Identifikasi protease utama (mpro) sebagai makromolekul target inhibitor novel coronavirus 2019 (SARS-CoV-2) secara in silico. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 3(2):84–91.
- Itoh, Y., Nakashima, Y., Tsukamoto, S., Kurohara, T., Suzuki, M., Sakae, Y., Oda, M., Okamoto, Y., & Suzuki, T. 2019. N⁺-C-H...O hydrogen bonds in protein-ligand complexes. *Scientific Reports*, 9(1):1–12.
- Lallo, S., Mirwan, M., Palino, A., Nursamsiar, & Hardianti, B. 2018. Senyawa bioaktifnya. *Fitofarmaka Indonesia*, 5(1):271–278.
- Lipinski, C.A. 2004. Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*, 1(4):337–341.
- Mesecar, A.D., St John, S.E., Lendy, E.K., Anson, B.J., Chapman, M.E., & Ghosh, A.K. 2021. A structure-guided taxonomicbased approach to the design of broad-spectrum coronavirus protease inhibitors. *Acta Crystallographica Section A Foundations and Advances*, 77(2):197.

- Muhyiddin, M. & Nugroho, H. 2021. A Year of Covid-19: A long road to recovery and acceleration of Indonesia's development. *Jurnal Perencanaan Pembangunan: The Indonesian Journal of Development Planning*, 5(1):1–19.
- Ortiz, C.L.D., Completo, G.C., Nacario, R.C., & Nellas, R.B. 2019. Potential inhibitors of galactofuranosyltransferase 2 (GfT2): molecular docking, 3D-QSAR, and In Silico ADMETox Studies. *Scientific Reports*, 9(1):1–28.
- Pace, C.N., Fu, H., Fryar, K.L., Landua, J., Trevino, S.R., Schell, D., Thurlkill, R.L., Imura, S., Scholtz, J.M., Gajiwala, K., Sevcik, J., Urbanikova, L., Myers, J.K., Takano, K., Hebert, E.J., Shirley, B.A., & Grimsley, G.R. 2014. Contribution of hydrogen bonds to protein stability. *Protein Science*, 23(5):652–661.
- Purwaniati & Asnawi, A. 2020. Target kerja obat antivirus covid-19. *Jurnal Farmagazine*, 7(2):30–42.
- Rut, W., Groborz, K., Zhang, L., Sun, X., Zmudzinski, M., Pawlik, B., Wang, X., Jochmans, D., Neyts, J., Młynarski, W., Hilgenfeld, R., & Drag, M. 2020. SARS-CoV-2 Mpro inhibitors and activity-based probes for patient-sample imaging. *Nature Chemical Biology*, 17(2):222–228.
- Suhadi, A., Rizarullah, R., & Feriyani, F. 2019. Simulasi docking senyawa aktif daun binahong sebagai inhibitor enzyme aldose reductase sel. *Jurnal Penelitian Kesehatan*, 6(2):55–65.
- Syahputra, G., Ambarsari, L., & Sumaryada, T. 2014. Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim 12-lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*, 10(1):55–67.
- Wlodawer, A., Minor, W., Dauter, Z., & Jaskolski, M. 2008. Protein crystallography for non-crystallographers, or how to get the best (but not more) from published macromolecular structures. *The FEBS Journal*, 275(1):1–21.
- Xiao, W., Wang, D., Shen, Z., Li, S., & Li, H. 2018. Multi-body interactions in molecular docking program devised with key water molecules in protein binding sites. *Molecules*, 23(9):2321–2343.